Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. W. Schulemann

„Der Einfluß einiger durch Lezithase A aus Lezithin entstehender Spaltprodukte auf das isolierte Froschherz."

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 11. Juli 1939

von

Dr. phil. Hans Blank

aus Bonn.

L. Neuendorff, Bonn Kaiserstr. 42

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn.

Referent: Doz. Dr. Zain
Korreferent: Prof. Dr. Ebbecke.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Zahlreiche Autoren sind in den letzten Jahrzehnten bemüht gewesen, eine Erklärung für den Wirkungsmechanismus der herzwirksamen Glukoside zu finden. Im Zusammenhang mit den physikalisch-chemischen Veränderungen, die diese Substanzen am Herzen hervorrufen, suchte man immer wieder das chemische Substrat zu ermitteln, mit dem die Glukoside in Reaktion treten sollten. Vor allem waren die Beziehungen zwischen der Glukosidbindungsfähigkeit bezw. Digitalisempfindlichkeit und dem Phosphatidgehalt des Herzmuskels der Gegenstand vieler Untersuchungen. Clark[1]) nahm an, daß die Digitalisbindung abhängig sei von den Herzlipoiden und dem Kalziumgehalt des Blutes. Schliomensum[2]) konnte aus dem Herzen eine alkohollösliche Phosphatidfraktion isolieren, die mit Digitoxin eine irreversible Verbindung einging. Ein Menschenherz, das gegen Digitalis refraktär geworden war, wies einen verminderten Gehalt an dieser alkohollöslichen Phosphatidfraktion auf. Kutschera-Aichbergen[3]) fanden eine Zunahme der alkohollöslichen Phosphatidfraktion bei chronischer Digitaliszufuhr und führten diese Zunahme auf eine Umwandlung der schwerlöslichen Reservephosphatide des Herzens in leichterlösliche zurück. Heyden[4]) zeigte dagegen, daß Herzpulver, das durch Extraktion mit Alkohol oder Aceton von den Phosphatiden befreit worden war, ebensoviel Digitoxin zu binden imstande war wie nicht extrahiertes. Sowohl Heyden als auch Weese[5]) in seiner Monographie über Digitalis kommen zu dem

---

1) Clark: J. of Pharmakol. 5; 215 (1914).

2) Schliomensum: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 63; 294 (1910).

3) Kutschera-Aichbergen: Über Herzschwäche; Urban u. Schwarzenberg 1929.

4) Heyden: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 164; 293 (1932).

5) Weese: Digitalis; Thieme 1936.

Schluß, daß direkte Beziehungen zwischen Herzphosphatiden und Digitoxinwirkung abzulehnen seien.

Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage liefert das Esculentenherz, das, wie Kisch[6]) zeigte, im Frühsommer für einige Zeit (ein bis mehrere Monate) magnesiumempfindlich wird und gleichzeitig eine erhöhte Empfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel aufweist. Analysen des Phosphatidgehaltes[7]) des Esculentenherzens, die während drei Jahren durchgeführt wurden, ergaben folgendes: Der Phosphatidgehalt, der im Frühsommer noch durchschnittlich 1450 mg pro 100 g Esculentenherz beträgt, steigt im Frühsommer auf Werte von durchschnittlich 1800 mg. Dieser hohe Phosphatidgehalt bleibt einige Zeit bestehen (ungefähr bis Sommerende) und nimmt dann nach einem vorübergehenden Sturz auf abnorm niedrige Werte (durchschnittlich 1100 mg) wieder den Ausgangswert an. Mit dem hohen Phosphatidgehalt geht zeitlich die Magnesiumempfindlichkeit des Esculentenherzens parallel. Diese äußert sich im Auftreten von Alternans und 2:1-Rhythmus nach dem Hinzufügen magnesiumhaltiger Ringerlösung (0,01% $MgCl_2$); auf der Höhe der Magnesiumempfindlichkeit gehen diese Erscheinungen in kurzer Zeit in Lucianische Perioden über. Beziehungen zur Laichzeit, sowie Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Esculentenherzen sind nicht vorhanden. Die auftretende Magnesiumempfindlichkeit dürfte mit der erhöhten Empfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel in Zusammenhang stehen. Im Hinblick auf diese Beobachtungen gewinnen nun die Untersuchungen von Jaretzky und Lier[8]) an Bedeutung, die auf jahreszeitliche Schwankungen in der Empfindlichkeit von Esculentenherzen gegenüber Magnolia-Digitaloiden hingewiesen haben. Sie konnten zeigen, daß die Empfindlichkeit gegen diese digitalisähnlichen Substanzen einen zeitlich auffallend ähnlichen Verlauf zeigt, im Mai-Juni ansteigt, im August ihr Maximum erreicht, im Oktober unter den Ausgangswert sinkt und sich dann diesem wieder nähert.

6) Kisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 137; 116 (1928).
7) Zain: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 190; 605 (1938).
8) Jaretzky u. Lier: Arch. d. Pharmazie 8; 599 (1937).

Die weitgehende Übereinstimmung in den jahreszeitlichen Schwankungen des Phosphatidgehaltes und der Empfindlichkeit gegen die genannten Digitaloide beim Esculentenherzen läßt erneut die Bedeutung des Phosphatidstoffwechsels im Herzen erkennen. Zain weist in diesem Zusammenhang auf den großen Reichtum der Phosphatide an ungesättigten Fettsäuren und auf die Lage der Doppelbindungen in diesen Fettsäuren hin, die zumeist eine bestimmte gesetzmäßige Anordnung aufweisen und einen Um- und Abbau der Fettsäuren auf dem Wege über die Phosphatide vermuten lassen.

Es liegen ferner zahlreiche Angaben vor, die den Lipoiden und damit den Phosphatiden eine bestimmte Bedeutung für die Permeabilität der Zelloberfläche zusprechen. Im Zusammenhang hiermit sei an die Ölketten Beutners[9]) erinnert, die bei geeigneter Anordnung zu Potentialdifferenzen führen, die in der Größenordnung den Zellmembranpotentialen entsprechen.

Clark[10]) stützt sich zur Deutung seiner experimentellen Ergebnisse am hypodynamen Froschherzen auf die Annahme, daß die Zelloberfläche von Lipoiden oder zur Hauptsache von Lipoiden gebildet wird, die dank ihrer Oberflächenaktivität einem einfachen physikalischen Gesetz zufolge an der Zelloberfläche angereichert sind und eine semipermeable Grenzschicht bilden. Nach Clark kommt der hypodyname Zustand des Froschherzens durch Auswaschen der Lipoide an dieser Grenzschicht zustande und kann durch Hinzufügen von oberflächenaktiven Stoffen wie Serum, Lezithin, Natriumsalzen der höheren Fettsäuren u. a. wieder behoben werden.

Als Hauptbestandteil der Herzlipoide gilt das Lezithin. Clark fand nun, daß von allen Fettsäuren, die ihm zugänglich waren, sich diejenigen am wirksamsten am hypodynamen Froschherzen erwiesen, die Spaltprodukte des Lezithins sind, nämlich die Palmitinsäure, die Stearinsäure und die Ölsäure.

---

9) Beutner: Die Entstehung elektrischer Ströme im lebenden Gewebe; Stuttgart 1920.

10) Clark: siehe oben.

Der Anlaß zu vorliegender Arbeit war die Frage, ob unter den anderen Abbauprodukten des Lezithins Substanzen zu finden waren, die in ihrer Wirkung auf das hypodyname Froschherz den bisher untersuchten Spaltprodukten des Lezithins oder dem Lezithin selbst gleichkamen oder ihnen gar überlegen waren und damit die Annahme nahelegten, daß die Zelle des Froschherzens zur Aufrechterhaltung der optimalen Permeabilität ihrer Oberfläche sich nicht nur der Lipoide, sondern auch einiger ihrer Spaltprodukte bedienen kann, die man sich unter dem Einfluß von Esterasen (Lipasen, Lezithasen) entstanden denken kann.

Aus dem Lezithin sind bisher (von der C_{16}-Reihe) Palmitinsäure ($C_{15}H_{31}COOH$), (von der C_{18}-Reihe) Stearinsäure ($C_{17}H_{35}COOH$), die einfach ungesättigte Ölsäure ($C_{17}H_{33}COOH$), die zweifach ungesättigte Linolsäure ($C_{17}H_{31}COOH$), die dreifach ungesättigte Linolensäure ($C_{17}H_{29}COOH$) und (von der C_{20}-Reihe) die vierfach ungesättigte Arachidonsäure ($C_{19}H_{31}COOH$) isoliert worden. Man nimmt an, daß in der Regel das Lezithin je eine gesättigte und ungesättigte Fettsäure enthält.

In vorliegender Arbeit wurden die Wirkungen von drei dieser Fettsäuren, nämlich der Ölsäure, der Linolsäure und der Linolensäure, auf das isolierte Froschherz untersucht, diese Wirkungen untereinander und mit der des Lezithins verglichen und in Beziehung zu einigen ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften gebracht. Die Arachidonsäure als die vierte der ungesättigten Fettsäuren des Lezithins bzw. das Ausgangsmaterial zu ihrer Gewinnung waren leider nicht zugänglich. Ferner wurden das aus dem Lezithin durch Abspaltung der ungesättigten Fettsäure entstehende Lysolezithin und das diese Spaltung bewirkende Kobragift in ihrer Wirkung auf das isolierte Froschherz geprüft.

Methodik.

Zur Untersuchung gelangten Esculenten, die teilweise im Oktober gefangen und im Laufe des Winters aufgebraucht wurden,

teilweise in den Monaten April, Mai und Juni gefangen wurden und jeweils nach wenigen Tagen zur Verwendung kamen. Die Präparation erfolgte nach der Methode Straub-Führer. Die Herzen schlugen in einer feuchten Kammer im Sauerstoffstrom. Die Ventrikelkontraktionen wurden mittels Schreibhebel auf eine berußte Trommel übertragen.

Die verwendete Ringerlösung enthielt 0,6% NaCl, 0,0075% KCl, 0,01% $CaCl_2$.

Es wurde das käufliche Acidum oleinicum puriss. Merck benutzt, das ohne weitere Reinigung verwendet werden konnte.

Die Darstellung der Linolsäure erfolgte nach den Angaben Rollets[11]). Als Ausgangsmaterial diente Mohnöl.

Darstellung der Tetrabromlinolsäure:

Die aus 1 kg Mohnöl durch Verseifen gewonnenen Fettsäuren wurden in 1500 ccm Petroläther (Sdp. 45°) gelöst. Hierzu wurde unter Eiskühlung und Umrühren tropfenweise Brom zugegeben, bis eine bleibende Rotfärbung der Reaktionsflüssigkeit eintrat. Das ausgeschiedene Tetrabromid wurde nach einiger Zeit abfiltriert und aus Petroläther (Sdp. 45°) umkristallisiert. Es wurden ca. 500 g reines Produkt erhalten. F: 114°.

Darstellung des Linolsäuremethylesters:

100 g der Tetrabromverbindung wurden mit 100 g granuliertem Zink und 150 ccm Methylalkohol zum Sieden erhitzt und zu diesem Reaktionsgemisch 150 ccm einer 5-fach normalen methylalkoholischen Salzsäure tropfenweise zugegeben. Nach Beendigung der Zugabe wurde noch eine Stunde gekocht. Beim Abkühlen schied sich auf der Flüssigkeit ein helles Öl ab, das in Petroläther (Sdp. 45°) aufgenommen wurde. Die Petrolätherlösung wurde mehrere Male mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das zurückbleibende Öl wurde im Vakuum destilliert. Kp.: 211—213° bei 16 mm/Hg. Die Ausbeute betrug 45 g.

---

11) Rollet: Z. physiol. Chemie 62; 410 (1910).

Darstellung der Linolsäure:

40 g des gewonnenen Methylesters wurden mit 400 ccm 5%iger äthylalkoholischer Natronlauge 12 Stunden lang stehen gelassen. Der Kolbeninhalt, der zu einer Gallerte erstarrt war, wurde in ca. 400 ccm Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Petroläther (Sdp. 45°) ausgeschüttelt. Die Petrolätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde einer wiederholten Vakumdestillation im Kohlensäurestrom unterworfen. Kp.: 228° bei 14 mm/Hg. Die Ausbeute betrug 34 g. Die Jodzahlbestimmung nach Hanus ergab 173,2. (Theoretischer Wert = 181,1.)

Als Ausgangsmaterial der Linolensäure diente die käufliche Linolensäure von der Fa. Schering-Kahlbaum. Das Präparat wurde zur Reinigung einer zweimaligen Vakuumdestillation im Kohlensäurestrom unterworfen. Kp.: 230-232° bei 17 mm/Hg. Die Jodzahlbestimmung nach Hanus ergab den Wert von 264,2 (Theoretischer Wert = 273,7).

Als Lezithin wurde das von der Firma Merck hergestellte Lecithinum ex ovo purissimum benutzt.

Die Fettsäuren wurden bei den Versuchen am Froschherzen stets in Form wässriger Emulsionen angewandt. Zu diesem Zweck wurde eine abgewogene Menge Fettsäure mit einem bestimmten Quantum Ringerlösung geschüttelt, bis eine gleichmäßige Emulsion entstanden war. Von dieser wurde ein aliquoter Teil durch Verdünnen auf die gewünschte Konzentration gebracht. Diese Emulsionen waren nur für kurze Zeit stabil, so daß sie jeweils vor ihrem Gebrauch wieder durchgeschüttelt werden mußten. Wegen der Empfindlichkeit vor allem der Linol- und Linolensäure gegen Luftsauerstoff wurden die Emulsionen an jedem Versuchstag frisch bereitet.

Versuche am frischen Froschherzen.

Am frischen Herzen bewirkte die Zugabe einer Ölsäure-Ringerlösung in einer Konzentration von 1 : 10 000 eine geringe Tonuszunahme und Abnahme der Hubhöhe, in manchen Fällen Störungen der Ventrikeltätigkeit in Form von 2:1-Rhythmus. Wurde innerhalb einer Stunde der Kanüleninhalt gegen frische Ölsäure-Ringerlösung derselben Konzentration ausgetauscht, so trat der schädigende Effekt verstärkt auf.

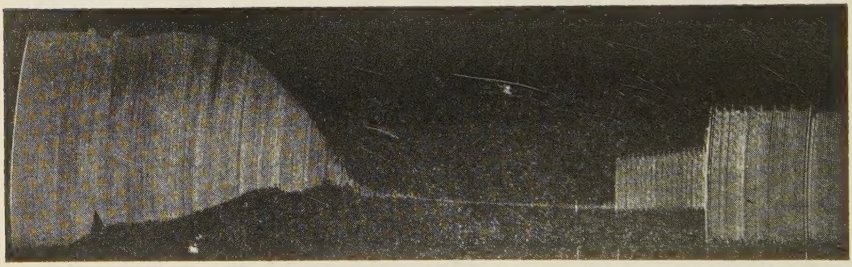
Linolsäure in Konzentrationen von 1:10 000 rief am frischen Herzen ebenfalls Tonuszunahme und Hubhöhenverminderung hervor. Wurde innerhalb einer Stunde erneut Linolsäure in derselben Konzentration zugeführt, so wurde auch hier der schädigende Effekt vergrößert.

Ein besonders stark schädigendes Verhalten zeigte die Linolensäure. In Konzentrationen von 1:10 000 bewirkte sie eine extreme Hubhöhenabnahme bei gleichzeitiger stärkerer Tonuszunahme. In einem Falle trat vorübergehend Peristaltik und halbsystolischer Stillstand des Ventrikels ein.

Wurde die Konzentration der zur Anwendung kommenden Fettsäureemulsionen auf 1:2500 erhöht, so riefen alle drei Säuren am frischen Herzen innerhalb weniger Minuten einen jähen Abfall der Amplitude, eine kurzdauernde Peristaltik und nachfolgenden längeren Stillstand des Ventrikels in mehr oder weniger ausgesprochener Kontrakturstellung hervor. Der Unterschied zwischen den drei Säuren zeigte sich in der Zeit, die zwischen Zugabe und Ventrikelstillstand lag. Diese Zeit betrug in einer Serie bei der Ölsäure 25, bei der Linolsäure 10, bei der Linolensäure 7 Minuten. Der Vorhof schlug in allen Fällen regelmäßig weiter, war jedoch mehr oder weniger gebläht. Der Kanüleninhalt, der bei der Zugabe milchig trübe war, war beim Eintritt des Ventrikelstillstandes in allen Fällen fast klar geworden, ein Zeichen dafür, daß der größte Teil der zugefügten Säuren vom Herzen sehr rasch aufgenommen worden war. Die Ventrikel fingen nach geraumer Zeit, bei der Öl- und

Linolsäure nach ungefähr einer Stunde, bei der Linolensäure erst nach 2½ Stunden, nach kurzdauernden peristaltischen Bewegungen wieder an, entsprechend dem Vorhofsrhythmus regelmäßig zu schlagen, und erholten sich verhältnismäßig rasch, ohne jedoch die Ausgangshubhöhen wieder zu erreichen (vgl. untensteh. Fig.).

Das Lezithin zeigte ein von den drei Fettsäuren abweichendes Verhalten. Eine Lezithinemulsion in Ringerlösung im Verhältnis 1:2500 rief am frischen Herzen außer einer geringfügigen Hub-



+ ↕½ cm³ Linolensäure 1 : 2500 — 2½ St. angeh. 10′ — 1½ St. angeh. — ½ St angeh.

Esculente ♀ 79 g — t = 18° C. — ⅔ Orig.-Gr.

Frisches Herz

+ = Lösung entfernt

höhenabnahme keine Veränderung hervor. Der Kanüleninhalt war noch nach 12 Stunden trübe. Diese Tatsache spricht dafür, daß das Lezithin bei den angewandten hohen Konzentrationen im Gegensatz zu den drei untersuchten Fettsäuren nicht in der Lage ist, in demselben Maße in den Herzmuskel einzudringen, wie die genannten Säuren.

Versuche am hypodynamen Froschherzen.

Der hypodyname Zustand des Esculentenherzens wurde dadurch erreicht, daß das schlagende Herz bei Hebelbelastung ohne Wechsel des Kanüleninhaltes bei guter Sauerstoffversorgung sich selbst überlassen blieb, bis die Hubhöhe auf zwei Drittel bis zur Hälfte ihres Ausgangswertes gesunken war. Dies war bei den hier zur Verwendung gelangenden Winterfröschen in der Regel nach 5 bis 8 Stunden der Fall.

Wurde dem hypodynamen Herzen Ölsäure-Ringerlösung in einer Konzentration von 1:10 000 zugefügt, so stieg die Hubhöhe innerhalb einer Minute beträchtlich an und konnte in manchen Fällen den Wert, den die Hubhöhe kurz nach der Präparation des Herzens hatte, erreichen. Die Hubhöhe sank darauf allmählich im Laufe einer halben bis einer Stunde wieder auf den Wert ab, den sie vor Zugabe der Säure gehabt hatte. Wurde zwei und vier Stunden nach der ersten Zugabe der Kanüleninhalt von neuem durch Ölsäure-Ringerlösung im Verhältnis 1 : 10 000 ersetzt, so konnte jedesmal eine bedeutende Hubhöhenzunahme erzielt werden. Doch zeigte sich, daß die Anstiege flüchtiger wurden und die Amplituden schneller auf den Ausgangswert sanken als nach der ersten Zugabe.

Linolsäure-Ringerlösung im Verhältnis 1 : 10 000 bewirkte am hypodynamen Herzen bezüglich Höhe und Dauer ähnliche Hubhöhenzunahmen wie die Ölsäure. Durch zweimaligen Ersatz des Kanüleninhaltes durch frische Linolsäure-Ringerlösung in Abständen von je zwei Stunden kamen auch hier erneut bedeutende, aber flüchtigere Anstiege zustande (s. Tafel bei S. 12).

Ein etwas abweichendes Verhalten zeigte die Linolensäure. Wurde sie in einer Konzentration von 1:10 000 dem hypodynamen Herzen zugefügt, so folgte einem schnellen und bedeutenden Anstieg der Amplitude ein verhältnismäßig rascher Abfall, der innerhalb 10 Minuten wieder zu dem Wert führte, den die Amplitude vor der Zugabe gehabt hatte. Erneuerung des Kanüleninhaltes nach zwei bzw. vier Stunden durch frische Linolensäure-Ringerlösung führte zu dem gleichen Bild (vgl. Fig. S. 12).

An Froschherzen, die durch Natriumoxalat kalziumarm gemacht worden waren und nur noch schwache Ventrikelkontraktionen zeigten, bewirkten die Fettsäuren, in 0,6%iger Kochsalzlösung zugegeben, erhebliche Hubhöhenzunahmen.

\+ ↕ 1/2 cm³ Linolensäure 1 : 10000

Esculente ♀ 48 g, t = 20° C. Orig.-Gr.

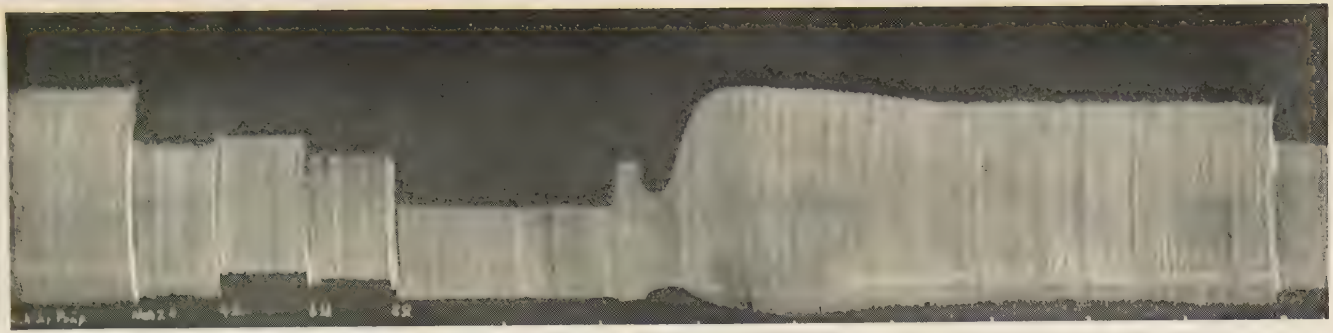
Hypodynames Herz

\+ = Lösung entfernt.

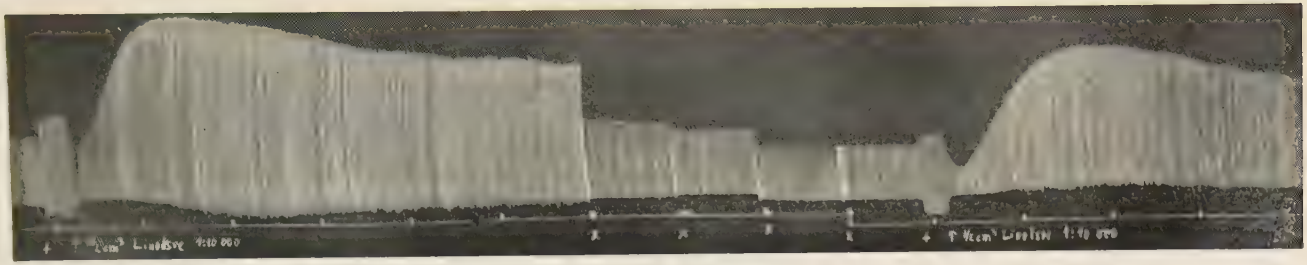
Bestimmung der Minimaldosen von Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure am hypodynamen Froschherzen. Vergleich mit Lezithin.

Um das Bild über die Wirkungsweise der genannten drei Fettsäuren zu vervollständigen, wurden ihre Konzentrationen ermittelt, die am hypodynamen Froschherzen eben noch eine deutliche Besserung der Ventrikeltätigkeit bewirken, und diese Konzentrationen untereinander und mit der entsprechenden des Lezithins verglichen. Um Fehlerquellen weitmöglichst auszuschalten, wurde folgende Methode gewählt.

Verwendet wurden frisch gefangene männliche Esculenten, die nur wenige Tage in Gefangenschaft gehalten worden waren und Gewichte von 35 bis 50 Gramm aufwiesen. Die Herzen schlugen vor Beginn des Versuches vier bis sechs Stunden unter reichlicher Sauer-



+ ↟ ½ cm³ Linolsäure 1 : 10000



+ ↟ ½ cm³ Linolsäure 1 : 10000

+ ↟ ½ cm³ Linolsäure 1 : 10000

Esculente ♀ 62 g, t = 21° C
Hypodynames Herz
+ = Ringerlösung entfernt
× = Kymographion ½ Stunde angehalten

stoffzufuhr bei Hebelbelastung und ohne Wechsel des Kanüleninhaltes. In dieser Zeit waren meist die Hebelausschläge auf zwei Drittel bis zur Hälfte ihres Ausgangswertes gesunken. Herzen, die in dieser Zeit zu wenig oder zu sehr hypodynam geworden waren oder Rhythmusstörungen zeigten, wurden zum Versuche nicht verwendet. Da schon Ringerlösung ohne jeden Fettsäurezusatz zuweilen eine Zunahme der Hubhöhe hervorrief und damit bei niedrigen Konzentrationen der Fettsäuren eine Wirkung vortäuschen konnte, wurden zahlreiche Versuche am hypodynamen Herzen nur mit Ringerlösung ausgeführt. Die durch Erneuerung der Ringerlösung am hypodynamen Froschherzen zuweilen zu beobachtende geringe Vergrößerung der Amplitude unterschied sich von den durch Fettsäuren hervorgerufenen durch ihren langsameren Anstieg. Es wurden deshalb nur Anstiege, die sehr deutlich waren und genügend rasch erfolgten, als positiv im Sinne einer Fettsäurewirkung bewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 eingetragen.

Die Unterschiede zwischen Lezithin und Ölsäure einerseits und zwischen Ölsäure und den beiden anderen Säuren andererseits sind deutlich, während ein Unterschied zwischen Linolsäure und Linolensäure bestenfalls angedeutet ist. Bei vorsichtiger Bewertung ergeben sich für die genannten Substanzen folgende wirksame Grenzkonzentrationen:

für Lezithin	≈ 1 : 50 000
für Ölsäure	≈ 1 : 800 000
für Linol- und Linolensäure	≈ 1 : 3200 000

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß von den genannten Konzentrationen jeweils ½ ccm zur Anwendung kam, üben folgende Mengen noch eine deutlich bessernde Wirkung auf das hypodyname Esculentenherz aus:

≈ 0,01 mg Lezithin,
≈ 0,00063 mg Ölsäure,
≈ 0,00016 mg Linolsäure,
≈ 0,00016 mg Linolensäure.

Tabelle 1.

	1 : 50000	1 : 100000	1 : 200000	1 : 400000	1 : 800000	1 : 1600000	1 : 3200000	1 : 6400000	1 : 12800000
Lezithin	50 g + 38 g − 36 g + 37 g +	42 g ± 42 g + 39 g − 37 g −	51 g ± 42 g − 40 g −	35 g ± 40 g − 39 g − 38 g −					
Ölsäure					41 g + 39 g + 35 g + 33 g +	40 g + 39 g ± 47 g − 41 g −			
Linolsäure						49 g + 40 g + 40 g + 34 g +	45 g + 39 g + 36 g + 37 g −	35 g + 46 g − 37 g −	
Linolensäure							42 g + 39 g + 39 g + 38 g +	39 g ± 42 g ± 36 g − 34 g −	39 g − 34 g −

+ = deutliche Wirkung, ± = unbestimmte Wirkung, − = keine Wirkung

Männliche Esculenten.

Physikalisch-chemische Versuche.

Clark[12]) zeigte in seinen Untersuchungen, daß erst die Natriumsalze der Fettsäuren von der Caprinsäure ($C_9H_{19}COOH$) an aufwärts in zunehmendem Maße die Tätigkeit des hypodynamen Froschherzens zu beleben vermögen. Während das Natriumacetat (C_2) und -butyrat (C_4) keinerlei Wirkung auf das hypodyname Herz besitzen, übt das Caprat (C_{10}) schon eine leicht bessernde Wirkung aus. Noch wirksamer sind das Laurat (C_{12}) und Myristat (C_{14}), während das Palmitat (C_{16}), Stearat und Oleat (C_{18}) von allen von Clark untersuchten fettsauren Salzen am wirksamsten sind. Clark setzte zu diesem Verhalten der Fettsäuren einige ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften in Parallele. Die Natriumsalze der Fettsäuren mit weniger als 10 C-Atomen bilden echte Lösungen. Sie üben in wässrigen Lösungen keine Oberflächenwirkung aus. Die Natriumsalze der Fettsäuren von der Caprinsäure an aufwärts bilden mit Wasser keine echten Lösungen mehr, sondern sind negativ geladene Kolloide und vermindern in dem Maße, als die Anzahl der C-Atome wächst, die Oberflächenspannung ihrer wässrigen Lösungen. Im gleichen Sinne ändert sich die Wasserlöslichkeit ihrer Kalziumsalze. Während Kalziumbutyrat sich noch gut in Wasser löst, lösen sich das Kalziumcaprat und -laurat schon sehr schwer, während Kalziummyristat und -oleat praktisch wasserunlöslich sind. Clark sieht die Wirkungsweise der Natriumsalze der höheren Fettsäuren von der Caprinsäure an aufwärts darin, daß sie einerseits dank ihrer Oberflächenaktivität an der Zelloberfläche adsorbiert werden und als negativ geladene Kolloide die negative Ladung der adsorbierenden Oberfläche vergrößern, andererseits mit dem Kalziumjon, das zur Wirkung der Fettsäuren unbedingt anwesend sein muß, Verbindungen bilden, die eine bessernde Wirkung auf die Herztätigkeit besitzen.

12) Clark: siehe oben.

Wieland[13]) betrachtet den hypodynamen Zustand des Froschherzens als eine Folge der Anhäufung von Giftstoffen an der Herzoberfläche, die nicht an den Ringer abgegeben werden können. Serum, Natriumoleat, Äther, Tierkohle u. a., die alle die Tätigkeit des Herzens bessern, wirken dadurch, daß sie dank ihrer Oberflächenaktivität an der Herzoberfläche adsorbiert werden und das dort gebundene Gift verdrängen. Pohle[14]) nimmt die Bildung eines löslichen Kalk-Phosphorsäure-Fettsäure-Komplexes an, der für die bessernde Wirkung der Fettsäuren verantwortlich sein soll.

Meine Versuche gingen dahin, die Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure in einigen ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften mteinander zu vergleichen, hier Parallelen zu ihrer Wirkung auf das isolierte Froschherz aufzusuchen und damit den Mechanismus dieser Wirkung von der physikalisch-chemischen Seite her zu klären zu versuchen.

Zunächst wurde versucht, analog den Versuchen von Clark, die Erniedrigung der Oberflächenspannung des Wassers durch Natriumsalze der genannten drei Fettsäuren in Beziehung zu setzen zu ihrer Wirkung auf das Froschherz. Es ist bei Clark leider nicht ersichtlich, ob die Messungen, die die Oberflächenspannungen der Seifen zum Gegenstand hatten, in gepufferter Lösung und damit bei einem bestimmten P_H-Wert erfolgten oder in ungepufferten Lösungen vor sich gingen, die Natriumjon und Fettsäurejon im stöchiometrischen Verhältnis 1:1 enthielten und damit einen jeweils durch die Natur der Fettsäure bestimmten P_H-Wert angenommen hatten. Deshalb wurden zunächst die Oberflächenspannungen, die die wässrigen Lösungen der Natriumsalze der drei Fettsäuren aufwiesen, bei verschiedenen P_H-Werten gemessen. Als Puffer wurden Ammoniak-Ammoniumchlorid-Lösungen gewählt, die entsprechend den Angaben von Michaelis[15]) bereitet wurden.

13) Wieland: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 89; 46.
14) Pohle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 178; 109.
15) Michaelis: Praktikum der physikal. Chemie. Springer/Berlin 1926.

9 ccm der Pufferlösung wurden mit 1 ccm einer Lösung vermischt, die das Natriumsalz der zu untersuchenden Fettsäure in einer Konzentration 1:1000 enthielt. Bestimmt wurde die Oberflächenspannung mittels des Stalagmometers nach Traube.

TABELLE 2.

Zusammensetzung der Pufferlösung in ccm				P_H-Wert	Oberflächenspannung der wäßrigen Lösungen der Natriumsalze (Konz. 1 : 10000) bezogen auf Wasser = 1		
n/10 HCl	n/1 NH_3	n/10 NH_3	H_2O		Ölsäure	Linolsäure	Linolensäure
6,4		6,5	19,10	7,7	—	—	0,719
6,4		6,6	19,00	8,0	0,933	0,813	0,650
6,4		6,8	18,80	8,3	0,852	0,675	0,585
6,4		7,2	18,40	8,58	0,776	0,598	0,597
6,4		8,0	17,60	8,89	0,760	0,563	0,629
6,4		9,6	16,00	9,19	0,740	0,547	0,654
6,4		12,8	12,80	9,5	0,719	0,546	0,672
6,4		19,2	6,40	9,8	0,703	0,560	0,687
6,4	3,20		22,40	10,1	0,682	0,555	0,693
6,4	5,76		19,84	10,4	0,703	0,564	0,682
6,4	10,88		14,72	10,7	0,674	0,569	0,694
6,4	21,12		4,48	11,0	0,681	0,573	0,680
6,4	41,60		—	11,3	0,678	—	—

Natriumoleat zeigt ein schwach angedeutetes Minimum von etwa 0,674 bei einem P_H-Wert von 10,7, Natriumlinolat ein stärker ausgeprägtes von 0,546 bei einem P_H-Wert von 9,5 und Natriumlinolenat ein sehr scharf ausgeprägtes von 0,585 bei einem P_H-Wert von 8,3. Nach diesen Werten besitzt das Natriumsalz der Linolsäure die stärkste Oberflächenaktivität, ihm folgen dann Linolensäure und Ölsäure.

Diese Minimumwerte werden jedoch bei P_H-Werten gefunden, die normalerweise im Froschherzen nicht vorkommen. Boehm[16]) konnte nämlich zeigen, daß das Froschherz die Fähigkeit besitzt, einen bestimmten schwachen Alkalitätsgrad hartnäckig beizubehalten und eintretende P_H-Verschiebungen in kurzer Zeit zu berichtigen. Deshalb dürfte es innerhalb gewisser Grenzen gleichgültig sein, ob die Fettsäuren in freier Form oder in Form ihrer Natriumsalze zur Einwirkung auf das Froschherz gelangen.

Die Messung der Oberflächenspannung wurde daher bei einem P_H-Werte von 7,25 wiederholt, und zwar mit Hilfe eines Veronal-Azetat-Puffers, der im Gebiete des Neutralpunktes gutes Pufferungsvermögen besitzt. Die absoluten Werte der Oberflächenspannungen in Veronal-Azetat-Lösung waren verschieden von denen in Ammoniak-Ammoniumchlorid-Lösung. Einige Kontrollwerte aber, die in P_H-Bereichen bestimmt wurden, die beiden Puffersystemen zugänglich sind, zeigten, daß die Änderungen der Oberfächenspannungen trotz Verschiedenheit der Werte in beiden Systemen gleichsinnig erfolgen.

Die Stammlösung des Veronal-Azetat-Puffers wurde durch Auflösen von 14,714 g Veronalnatrium und 9,714 g Natriumazetat in 500 ccm Wasser bereitet.[17]) 20 ccm dieser Lösung wurden mit 22 ccm n/10 Salzsäure versetzt. Die hieraus resultierende Lösung zeigte einen P_H-Wert von 7,25. Der Ansatz der zu untersuchenden Lösungen und die erhaltenen Oberflächenspannungen ergeben sich aus folgender Tabelle.

16) Boehm: Naunyn-Schmiedebergs Arch.: 75; 230.
17) Rona: Praktikum d. physiol. Chem. Springer 1931.

TABELLE 3.

Pufferlösung P_H 7,25	H_2O	Natriumsalz der Fettsäure in Wasser 1 : 1000	Oberflächenspannung bezogen auf H_2O = 1 (Konz. der Seife 1 : 10000)
4,2 ccm	4,8 ccm	1 ccm Natrium-Oleat	0,832
4,2 ccm	4,8 ccm	1 ccm Natrium-Linolat	0,776
4,2 ccm	4,8 ccm	1 ccm Natrium-Linolenat	0,665

Die Tabelle zeigt, daß bei dem P_H-Wert 7,25 die Linolensäure die größte Oberflächenaktivität besitzt, ihr folgen die Linolsäure und die Ölsäure.

Nun aber zeigte sich, daß die Anwesenheit von Lezithin eine erhebliche Veränderung der Oberflächenspannung der Seifenlösung bewirkt, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

TABELLE 4.

Pufferlösung P_H = 7,25	H_2O	wäßrige Lezithin-emulsion 1 : 100	Na-Salz d. Fettsäure in Wasser 1 : 1000	Oberflächenspann. bezogen a. H_2O = 1 (Konz. der Seife 1 : 10000)
4,2 ccm	4,8 ccm	1 ccm	—	0,939
4,2 ccm	3,8 ccm	1 ccm	1 ccm Na-Oleat	0,904
4,2 ccm	3,8 ccm	1 ccm	1 ccm Na-Linolat	0,880
4,2 ccm	3,8 ccm	1 ccm	1 ccm Na-Linolenat	0,878

Die Tabelle zeigt, daß die Werte, die die Oberflächenspannungen der Seifenlösungen in Anwesenheit von Lezithin annehmen, sich dem der reinen Lezithinlösung beträchtlich nähern und daß gleichzeitig die vorher ziemlich erheblichen Unterschiede zwischen den Fettsäuren bedeutungslos werden.

Aus diesen Ergebnissen ist zu entnehmen, daß die Anwesenheit einer Lezithinemulsion eine tiefgreifende Veränderung in der kol-

loidchemischen Zusammensetzung der untersuchten Seifenlösungen bewirkt. Eine weitere Klärung brachten Untersuchungen über die Ausfällbarkeit der Kalziumsalze.

Tabelle 5 zeigt die Ausfällbarkeit der Kalziumsalze in Abhängigkeit vom P_H-Wert. Als Puffer diente wieder Veronal-Azetat-Lösung.

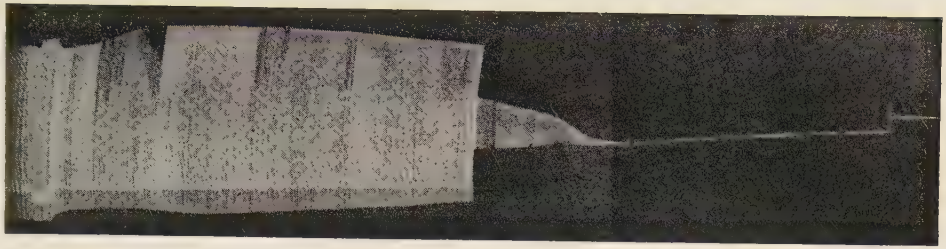
TABELLE 5.

Veronal-Azetat-Stammlösung	n/10 HCl	$CaCl_2$-Lösung 1 : 100	H_2O	Fettsäure in Wasser emulg. 1 : 1000	Ergebnis I	II	III	P_H
4,0 ccm	3,2 ccm	0,2 ccm	10,6 ccm	2,0 ccm			+++	7,66
4,0 „	4,0 „	0,2 „	9,8 „	2,0 „		+++	+++	7,42
4,0 „	4,4 „	0,2 „	9,4 „	2,0 „		+++	+	7,25
4,0 „	4,8 „	0,2 „	9,0 „	2,0 „	+++	+	∅	6,99
4,0 „	5,2 „	0,2 „	8,6 „	2,0 „	+++	∅	∅	6,75
4,0 „	5,4 „	0,2 „	8,4 „	2,0 „	+	∅	∅	6.46
4,0 „	5,6 „	0,2 „	8,2 „	2,0 „	∅	∅	∅	6,21
4,0 „	6,4 „	0,2 „	7,4 „	2,0 „	∅	∅	∅	5,32

I = Ölsäure, II = Linolsäure, III = Linolensäure
\+ = beginnender Niederschlag von fettsaurem Kalzium
+++ = starker Niederschlag von fettsaurem Kalzium

Das Verhältnis Fettsäure : Ca/2 betrug etwa 5 : 1. Kalzium war im Reaktionsgemisch in derselben Konzentration wie in Ringerlösung vorhanden. Es ist zu ersehen, daß das Kalziumsalz der Linolensäure bei P_H = 7,25, das der Linolsäure bei P_H = 6,99 und das der Ölsäure bereits bei P_H = 6,46 auszufallen beginnt. Bei einem P_H-Wert von 7,25 bilden sich demnach bei den hier gewählten Konzentrationen die Kalziumsalze sämtlicher drei Fettsäuren.

Um die Bildung der Kalziumverbindungen der Fettsäuren in Gegenwart von Lezithin zu prüfen, mußte die eben angeführte Methode modifiziert werden, da die Trübung, die das Lezithin in der

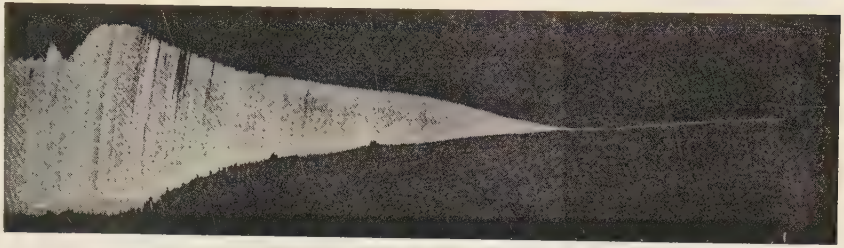


+ ⇞ ½ cm³ Kobragift 1 : 10000 — 10′ angeh. — 3 St. angeh.

Esculente ♀ 57 g, t = 23° C

Frisches Herz — ⅔ Orig.-Gr.

+ = Lösung entfernt



+ ⇞ ½ cm³ { Lezithin 1 : 10000 } vorher 2 St lang zus. { Kobragift 1 : 10000 } auf 50° C erwärmt — 1 St. angeh.

Esculente ♀ 47 g, t = 22° C — ⅔ Orig.- Gr.

Frisches Herz

+ = Lösung entfernt

Tabelle 6.

Nr.	Veronal-Acetat-Stammlösung	n/10 HCl	H_2O	$CaCl_2$ in Wasser 1 : 100	wäßrige Lez.-Em. 1 : 200	Na-Salz der Fettsäure in Wasser 1 : 100	Gesamtvolumen	Bemerkungen	Vol. d. zur Kalziumbest. verwendeten Lösung	Volumen d. verbraucht. n/100-$KMnO_4$-Lösung	Gefund. Menge Kalzium i. 20 cm³
1	4,0 cm³	4,4cm³	6,2cm³	0,4cm³	5,0cm³	—	20 cm³	gleichmäßige Trübung ohne erkennbaren Niederschlag	3 cm³ 3 „	0,93 0,96 } 0,95 cm³	1,27 mg
2	4,0 „	4,4 „	3,7 „	0,4 „	5,0 „	2,5 cm³ (Ölsäure)	20 „	desgl.	3 „ 3 „	0,96 0,95 } 0,96 „	1,28 mg
3	4,0 „	4,4 „	3,7 „	0,4 „	5,0 „	2,5 cm³ (Linolsäure)	20 „	desgl	3 „ 3 „	0,97 0,92 } 0,95 „	1,27 mg
4	4.0 „	4,4 „	3,7 „	0,4 „	5,0 „	2,5 cm³ (Linolensäure)	20 „	desgl.	3 „ 3 „	0,87 0,90 } 0,89 „	1,19 mg
5	4,0 „	4,4 „	11,2 „	0,4 „	—	—	20 „	Klare Lösung	3 „ 3 „	1,03 1,08 } 1,05 „	1,40 mg

$P_H = 7{,}25$. Das Verhältnis Fettsäure : Ca/2 betrug 1,2 : 1. Das Kalziumchlorid war in doppelter Konzentration wie in Ringerlösung vorhanden.

Reaktionslösung verursachte, die Bildung etwaiger Niederschläge nicht erkennen ließ. Es wurde daher folgender Weg eingeschlagen (s. Tab. 6).

Wie beim letzten Versuch wurden auch hier die in Frage kommenden Lösungen zusammengegeben. Außerdem wurde ein Versuch ohne Fettsäure und einer ohne Fettsäure und Lezithin angesetzt. Die Lösungen, die Lezithin enthielten, wurden nach einigem Stehen mit ca. 10 ccm Chloroform gut durchgeschüttelt und die entstandenen stark milchigen Emulsionen 1 Stunde lang bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Es erfolgte eine Trennung in zwei Schichten. Von der oberen wässrigen, die völlig klar war, wurde soviel wie möglich abpipettiert und von einem aliquoten Teil der abpipettierten Flüssigkeit eine Kalziumbestimmung entsprechend der Kalziumbestimmung im Blutserum nach Clark durchgeführt.

Aus Tabelle 6 ergibt sich, daß innerhalb der Fehlergrenzen die gleichen Mengen Kalzium in der wässrigen Phase wiedergefunden wurden, gleichgültig, ob außer dem Lezithin sich Fettsäuren in der Reaktionslösung befanden oder nicht. Daß die Kalziumwerte in 1 bis 4 etwas niedriger sind als in der Leerbestimmung 5, mag seinen Grund darin haben, daß Lezithin etwas Kalzium bindet.

Die Klärung der Frage nach der nun wirksamen Form der Fettsäuren in Anwesenheit von Lezithin und Kalziumsalzen wird erschwert durch die Schwerslöslichkeit der Fettsäuren bzw. Seifen in Wasser. Bei den hier benutzten Fettsäurekonzentrationen sind sowohl die Seifen als auch reinen Fettsäuren zum größten Teil als Kolloidteilchen vorhanden, die mit einem zweiten Kolloid (dem Lezithin) in Wechselwirkung treten, wobei die Fettsäuren in dem Lezithin ein Lösungsmittel vorfinden.

Es sei in diesem Zusammenhang auf die Untersuchungen Jarischs[18]) hingewiesen, in denen gezeigt wurde, daß Seifen beim Zusammenbringen mit Serum hydrolytisch in Fettsäuren und Alkali zerfallen. Die Fettsäuren verbinden sich mit dem Eiweiß zu einer

18) Jarisch: Pflügers Arch. f. Physiol. 194; 337.

klaren Lösung und lassen sich weder durch Säuren noch durch Kalziumchlorid ausfällen. Rabbeno[19]) kam auf auf Grund vergleichender Untersuchungen über die pharmakologischen Eigenschaften von Ölsäure, ölsaurem Natrium und ölsaurem Kalzium zu dem Schluß, daß die Wirkung dieser genannten Substanzen (tödliche Dosis und gerinnungshemmende Wirkung), obwohl in quantitativer Hinsicht verschieden, qualitativ gleich und nur auf den Einfluß der Fettsäure zurückzuführen sei.

Umgekehrt sprechen die Versuche von Gaede[20]) dafür, daß an Froschmuskeln das Kalziumion und nicht undissoziiertes Kalzium bzw. Kalzium-Komplexverbindungen für die Muskelkontraktion von ausschlaggebender Bedeutung sind.

Meine Versuchsergebnisse finden eine zwanglose Erklärung dadurch, daß in Gegenwart von Lezithin die Natriumsalze der untersuchten Fettsäuren hydrolytisch zerfallen, daß die freigewordenen Fettsäuren an Lezithin adsorbiert bzw. in ihm gelöst werden und nun durch Ca-Jonen nicht mehr ausgefällt werden können. Damit gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß in der lipoidreichen Grenzschicht der Zelle die Existenz von Natrium- und Kalziumsalzen der Fettsäuren unmöglich ist, daß die untersuchten physikalisch-chemischen Eigenschaften der Natrium- und Kalziumsalze zu ihrer Wirkung auf die Zelle unter Umständen in Parallele gesetzt werden können, aber für die Wirkung selbst keine ursächliche Bedeutung haben. Daß aber die Wirkung der Fettsäuren und ihrer Salze auf einer Veränderung der kolloid-chemischen Eigenschaften der Lipoide durch f r e i e Fettsäuren beruhen könnte, konnte weiter durch die Verschiebung des isoelektrischen Punktes des Lezithins wahrscheinlich gemacht werden.

Die Bestimmung des isoelektrischen Punktes erfolgte entsprechend den Angaben von Michaelis[21]). Als Puffer fanden Natrium-

---

19) Rabbeno: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 134; 17.
20) Gaede: Naunym-Schmiedebergs Arch. 188; 169.
21) Michaelis: siehe oben.

lactat-Milchsäurelösungen Verwendung. Die zu untersuchenden Emulsionen enthielten das Lezithin im Verhältnis 1 : 1000 und die Fettsäure im Verhältnis 1 : 10 000. Der Ansatz des Versuches ist aus der Tabelle zu ersehen.

TABELLE 7a.

n 10 NaOH	n 10 Milchsäure	n 1 Milchsäure		P_H	je 4 Röhrchen Nr.
1,6 ccm	1,8 ccm		auf 64 ccm verdünnt	4,70	1
1,6 „	2,0 „		„ „ „ „	4,45	2
1,6 „	2,4 „		„ „ „ „	4,17	3
1,6 „	3,2 „		„ „ „ „	3,80	4
1,6 „	4,8 „		„ „ „ „	3,50	5
1,6 „	8,0 „		„ „ „ „	3,20	6
1,6 „		1,44	„ „ „ „	2,90	7
1,6 „		2,72	„ „ „ „	2,61	8
1,6 „		5,28	„ „ „ „	2,30	9
1,6 „		10,40	„ „ „ „	ca. 2,00	10
1,6 „		20,64	„ „ „ „	ca. 1.70	11
1,6 „		41,12	„ „ „ „	ca. 1,40	12

Je 9 ccm von jeder dieser Lösungen, in vier entsprechende Röhrchen hineinpipettiert, wurden:

mit 1 ccm Lezithin 1:100
mit 1 ccm Lezithin 1:100 + Ölsäure 1:1000
mit 1 ccm Lezithin 1:100 + Linolsäure 1:1000
mit 1 ccm Lezithin 1:100 + Linolensäure 1:1000

in Form der wässrigen Emulsionen versetzt.

TABELLE 7b.

	nach 30′	nach 60′	nach 90′
Lezithin	6+ 7+(+) 8+	6+ 7+++ 8+++	6+ 7+++ 8+++
Lezithin + Ölsäure	8+ 9+	7+ 8++ 9++	7+ 8+++ 9+++
Lezithin + Linolsäure	8+ 9+	7+ 8++ 9++	7+(+) 8+++ 9+++
Lezithin + Linolensäure	8+ 9+	7+ 8++ 9++	7+(+) 8+++ 9+++

\+ = beginnende Ausflockung ++ = mittelstarke Ausflockung
+++ = vollständige Ausflockung

Der isoelektrische Punkt des Lezithins erfährt durch den Zusatz der Fettsäureemulsion eine deutliche Verschiebung nach der sauren Seite, d. h. die negative Ladung der Kolloidteilchen des Lezithins wird vergrößert. Unterschiede zwischen den drei Fettsäurenemulsionen hinsichtlich der Stärke der Rechtsverschiebung konnten nicht beobachtet werden.

Diese Beziehungen Fettsäure-Lezithin führten zur Frage, wie sich das nach Entfernung der ungesättigten Fettsäure aus dem Lezithin bildende Lysolezithin auf das Froschherz verhielt.

Versuche mit Kobragift und Lysolezithin.

Durch die im Kobragift vorkommende Lezithase A läßt sich aus Lezithin Lysolezithin bilden.

Darstellung des Lysolezithins:

Die Darstellung des Lysolezithins erfolgte nach den Angaben von Fourneau und Deleszenne[22]).

Zwei Eidotter wurden mit Säugetier-Ringerlösung auf ein Volumen von 100 ccm gebracht. Zu dieser Emulsion wurde 1 mg Kobragift, in 1 ccm Ringerlösung gelöst, zugegeben und das Reaktionsgemisch 12 Stunden lang auf 50° C erwärmt. Die Emulsion wurde dann im Vakuumexsiccator, zuerst über konz. Schwefelsäure, dann über Phosphorpentoxyd in der Kälte zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde zur Entfernung der Farbstoffe mehrere Male mit kaltem Azeton ausgezogen. Dann wurde mit heißem Alkohol zweimal ausgekocht. Die vereinigten alkoholischen Auszüge wurden eingeengt und mit dem mehrfachen Volumen Äther versetzt. Es fiel ein voluminöser Niederschlag aus, der noch beträchtliche Mengen öliger Substanzen enthielt. Die überstehende Flüssigkeit wurde dekantiert und der Rückstand mit Äther durch mehrmaliges Übergießen und nachfolgendes Dekantieren gewaschen. Der Rückstand wurde darauf zur Verjagung des restlichen Äthers auf dem Wasserbad erwärmt und in wenigen Kubikzentimetern heißen Alkohols aufgenommen. Die alkoholische Lösung wurde heiß filtriert und schied beim Erkalten eine weiße kristalline Substanz ab. Diese wurde noch mehrere Male aus Alkohol umkristallisiert. Sie begann bei etwa 170° zu sintern und zersetzte sich bei 260° (bei raschem Erhitzen). Ausbeute ca. 100 mg. Die Substanz ist löslich in heißem Alkohol, unlöslich in Azeton und Äther. In 50° heißem Wasser gehen die Kristalle in feine durchsichtige Öltröpfchen über, die gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt sind und bei oberflächlicher Betrachtung den Eindruck einer klaren Lösung hervorrufen. Sie gehen beim Erkalten wieder in den kristallinen Zustand über. Die Substanz bewirkt noch bei einer Konzentration von 1 : 50 000 Hämolyse einer 5%igen Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen in Ringerlösung.

22) Fourneau und Deleszenne: Bull. Soc. Chim. 15; 421 (1914).

Das Kobragift hat in der Literatur eine eingehende Würdigung erfahren. Belfanti[23]) und Contardi u. Latzer[24]) haben u. a. seine fermentartige, lezithinspaltende Wirkung beschrieben; seine hämolytischen Eigenschaften beruhen darauf, daß es Lezithin durch Abspaltung einer Fettsäure und zwar der ungesättigten in Lysolezithin überführt, das schon in geringen Konzentrationen Hämolyse bewirkt. Magenta[25]) konnte zeigen, daß Kobragift beim isolierten Herzen von Lachesis ocellatus systolischen oder halbsystolischen Stillstand hervorruft. Die gleiche Wirkung besaß nach seinen Angaben das Lysolezithin. Serum und Lezithin verstärkten die Wirkung des Kobragiftes; der Effekt war besonders stark, wenn die genannten Substanzen bereits eine Stunde vorher mit dem Gift zusammengebracht worden waren.

Eigene Versuche: Wurde das Kobragift, in einer Konzentration von 1 : 10 000 in Ringer gelöst, zur Einwirkung auf das isolierte Froschherz gebracht, so trat in der Regel nach 15 bis 20 Minuten halbsystolischer oder systolischer Stillstand des Ventrikels mit nachfolgender Kontraktur ein. Der Vorhof schlug noch einige Zeit weiter, bis auch er zum Stillstand kam (s. Tafel bei S. 28, obere Fig.).

Lezithin in einer Konzentration von 1 : 10 000 bewirkte, selbst wenn es bereits längere Zeit vor Beginn des Versuches mit Kobragift in der Kälte zusammengebracht worden war, keine Verstärkung des Effektes, wohl aber, wenn es mit dem Gift vorher zwei Stunden lang zusammen auf 50° erwärmt worden war. Der Ventrikelstillstand trat hier in der Regel schon nach 8 bis 12 Minuten ein, die systolische Kontraktur war sehr viel deutlicher (s. Tafel bei S. 28, untere Fig.). Wurde das Kobragift länger als zwei Stunden bei 50° mit dem Lezithin in Berührung gelassen, so trat wieder Abschwächung des Effektes ein.

Daß die Zunahme der Wirkung des Kobragiftes nicht durch längere Erwärmung allein zustande kam, konnte dadurch bewiesen

23) Belfanti: Biochem. Z. 154; 148.
24) Contardi u. Latzer: Biochem. Z. 197; 222.
25) Magenta: C. r. Soc. de Biologie, 87; 834.

werden, daß nach vorheriger getrennter Erwärmung von Kobragift und Lezithinemulsion keine Verstärkung der Wirkung eintrat.

Die lezithinspaltende Eigenschaft des Kobragiftes, sowie die Tatsache, daß seine Wirkung durch Lezithin unter bestimmten Bedingungen gefördert wird, legen die Annahme nahe, daß seine Wirkung auf das Froschherz durch die Entstehung von Spaltprodukten des Lezithins zustande kommt. Diese Spaltprodukte sind die bereits erwähnten ungesättigten Fettsäuren und Lysolezithin.

Die Entstehung von ungesättigten Fettsäuren kann aber nicht allein für die Wirkung des Kobragiftes verantwortlich gemacht werden, da die Wirkung dieser Fettsäuren, wie gezeigt, von der des Kobragiftes deutlich verschieden ist. Es wäre zu erwarten gewesen, daß, ähnlich wie dies Magenta beim isolierten Schlangenherzen beschreibt, das Lysolezithin einen systolischen Stillstand beim Froschherzen bewirkte.

Die Versuche mit Lysolezithin aber zeigten, daß außer einer bessernden Wirkung beim hypodynamen Herzen, die durch die korpuskuläre Natur der Lysolezithinkristalle in Übereinstimmung mit den Versuchen von Krautwald[26]) rein mechanisch bedingt sein könnte, kein besonderer Effekt zu erzielen war. Es konnte beobachtet werden, daß das feinkristalline Lysolezithin über sehr lange Zeit in der Kanüle sichtbar blieb. Selbst kolloidale Lösungen von Lysolezithin, die durch Zugabe von Lezithin und Fettsäuren hergestellt werden konnten, zeigten keine andere Wirkung. Es wird angenommen, daß das Lysolezithin nicht in genügender Geschwindigkeit in die Zelle eindringen und dort genügend hohe Konzentrationen erreichen kann, während dies offenbar der Fall sein dürfte, wenn unter der Einwirkung von Kobragift Lysolezithin unmittelbar in der Zelle selbst entsteht.

26) Krautwald: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 188; 152 (1937).

Zusammenfassung.

Es wurde die Ölsäure, die aus Mohnöl dargestellte Linolsäure, sowie die durch Vakuumdestillation gereinigte Linolensäure am frischen und hypodynamen nach Straub-Führer präparierten Esculentenherzen ausgewertet.

Die Grenzkonzentrationen, in denen diese drei der C_{18}-Reihe angehörenden ungesättigten Fettsäuren mit 1,2 und 3 Doppelbindungen noch einen bessernden Einfluß auf das hypodyname Froschherz haben, werden neben den deutlich das Herz schädigenden Konzentrationen ermittelt. Zum Vergleich ist der Einfluß des Lezithins auf das hypodyname Froschherz untersucht.

Zur Analyse der Wirkung dieser Fettsäuren wurde die Oberflächenspannung der Natrium-Salze dieser Säuren bei verschiedenen P_H-Werten gemessen und der Einfluß einer Lezithinemulsion auf die Oberflächenspannung der Natrium-Salze obiger Säuren studiert (bei $P_H = 7{,}25$). Weiter wurde die Existenz von Kalzium-Fettsäureverbindungen bei $P_H = 7{,}25$ in Anwesenheit von Lezithin untersucht und aus den gewonnenen Daten sowie aus der Verschiebung des isoelektrischen Punktes des Lezithins geschlossen, daß die Wirkung obiger Fettsäuren und ihrer Salze auf einer kolloidchemischen Änderung der Lipoide durch die freien Fettsäuren beruhen dürfte.

Das aus dem Lezithin nach Entfernung der ungesättigten Fettsäure entstehende Lysolezithin wurde mittels Lezithase A (aus Kobragift) dargestellt. Ein besonderer Effekt des Lysolezithins auf das Froschherz wurde nicht gefunden. Dagegen führte Kobragift, wie dies schon früher am Schlangenherz beschrieben, auch zu einem systolischen Stillstand des Froschherzens.

LEBENSLAUF.

Am 10. März 1910 wurde ich, Hans Blank, in Bonn a. Rh. als Sohn des Kaufmanns Carl Blank und seiner Ehefrau Frieda geb. Edinger geboren. Ich besuchte von 1916 ab die Vorschule, von 1919 ab das Städtische Realgymnasium in Bonn, das ich Ostern 1928 mit dem Zeugnis der Reife verließ, um mich dem Studium der Chemie an der Universität Bonn zuzuwenden. Hier bestand ich im Mai 1932 die chemische Verbands-Hauptprüfung. Von meinem vierten Studiensemester an nahm ich als zweites Fach Medizin hinzu, deren Studium ich nach der bestandenen ärztlichen Vorprüfung im März 1932 vorläufig unterbrach.

Im Juni 1932 begann ich im Chemischen Institut der Universität Bonn unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. phil., Dr. ing. E. h. Paul Pfeiffer, meine chemische Doktorarbeit „Über die Primärverbindungen bei Grignardreaktionen", die ich 1934 beendete. Im Dezember 1934 promovierte ich zum Dr. phil.

Im November 1934 setzte ich an der Universität Bonn das unterbrochene Studium der Medizin fort, das ich am 15. Januar 1938 mit der bestandenen ärztlichen Prüfung abschloß.

Das vorgeschriebene Praktische Jahr verbrachte ich zur Hälfte an der Medizinischen Poliklinik, zur Hälfte am Pharmakologischen Institut der Universität Bonn. Nach Ablauf des Praktischen Jahres wurde mir mit der Geltung vom 1. Februar 1939 ab die Bestallung als Arzt erteilt.

Im November 1938 begann ich im Pharmakologischen Institut der Universität Bonn die vorliegende Arbeit: „Der Einfluß einiger durch Lezithase A aus Lezithin entstehender Spaltprodukte auf das isolierte Froschherz", die ich im Juni 1939 beendete.